

PRESS RELEASE (2020/09/11)

## 脂質を介する神経細胞の健全性維持のメカニズムを解明 — 神経疾患の新たな治療法開発に期待 —

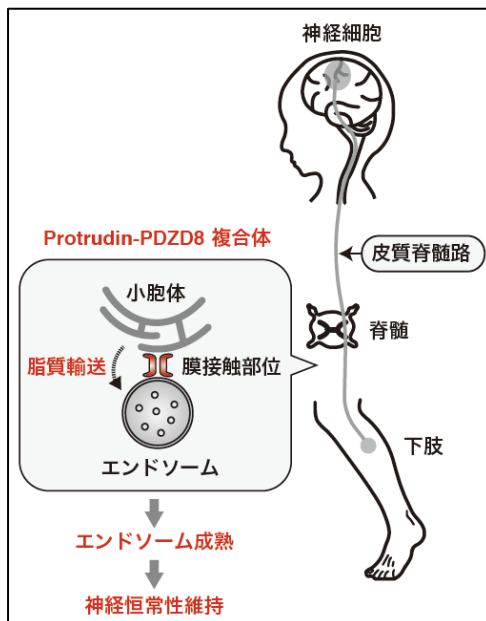
名古屋市立大学大学院薬学研究科の白根 道子 教授と九州大学生体防御医学研究所の中山 敬一 主幹教授らの研究グループは、神経疾患の原因タンパク質である Protrudin (プロトルーディン) (※1) と PDZD8 (※2) が、脂質輸送を介してエンドソーム成熟 (※3) に働き、それが神経細胞の健全性維持に寄与していることを明らかにしました。

神経細胞は軸索という長い突起を持っており、その中をエンドソームが輸送されることにより、さまざまな物質を突起先端に向けて運びます。このエンドソームの極性輸送 (※4) は、遠く離れたターゲット細胞に向けて神経突起を伸長したり、神経伝達物質を分泌したりする、神経細胞の基盤となる機構です。そのエンドソーム輸送に不全をきたすと、神経変性疾患 (※5) を発症します。しかしその発症機構の詳細については不明でした。

本研究グループは、遺伝性痙性対麻痺 (※6) という神経変性疾患の原因として知られていたプロトルーディンの複合体解析を行い、新たに PDZD8 というタンパク質を同定しました。プロトルーディンと PDZD8 の複合体は、細胞内で小胞体とエンドソームの間を繋留し、その膜接触部位 (MCSs) (※7) において小胞体からエンドソームに脂質を輸送してエンドソームの成熟を促し、その結果、神経細胞の健全性維持に働くことがわかりました。

PDZD8 は心的外傷後ストレス障害 (PTSD) (※8) のリスクファクターとしても知られています。よって今回の発見は、神経変性疾患だけでなく精神疾患も含む神経疾患全般に対し、発症原因の解明と新たな治療法開発に繋がることが期待されます。

本研究成果は、2020 年 9 月 11 日 (金) 午後 6 時 (日本時間) に英国科学雑誌「Nature Communications」で公開される予定です。なお、用語解説は別紙を参照。



### 参考図 神経恒常性の維持機構

Protrudin-PDZD8 複合体は小胞体とエンドソームを繋留し、その膜接触部位で脂質を輸送し、その結果正常なエンドソーム成熟が起こり、神経の恒常性が維持されます。

### 研究者からひとこと：

神経細胞内で小胞体からエンドソームに脂質が運ばれることで、エンドソームが成熟し、そのメカニズムが破綻すると神経細胞が変性します。これらの知見から、これまで原因が不明で治療困難であった神経疾患に対し、新たな治療法開発に繋がることが期待されます。

【お問い合わせ】名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授 白根 道子 (しらね みちこ)

E-mail: shiram@phar.nagoya-cu.ac.jp

九州大学生体防御医学研究所 主幹教授 中山 敬一 (なかやま けいいち)

E-mail: nakayak1@bioreg.kyushu-u.ac.jp

## 脂質を介する神経細胞の健全性維持のメカニズムを解明 — 神経疾患の新たな治療法開発に期待 —

### <研究の概要>

プロトルーディン(Protrudin) はエンドソーム輸送の制御タンパク質で、神経軸索変性症の関連分子です。その発症機構の詳細はこれまで不明でした。今回本研究グループは、脳神経系で Protrudin が PDZD8 と複合体を形成していることを見出し、それらの神経細胞内での働きと、その破綻による神経軸索変性症の発症機構を明らかにしました。Protrudin-PDZD8 複合体は、小胞体(ER)とエンドリソソーム(LyLE)を繋留し、脂質輸送を介してエンドソーム成熟に働き、それが神経の健全性維持に寄与していることを明らかにしました。

### <研究の背景と経緯>

遺伝性痙性対麻痺は、皮質脊髄路という随意運動を担う神経回路の運動神経が損傷する軸索変性症です。その関連タンパク質の Protrudin は、エンドソーム輸送を制御し神経突起伸長を促進させる分子です。近年エンドソーム輸送が、ER と LyLE の間の膜接触部位(MCSs)というマイクロドメインで制御されていること、そしてその MCSs の破綻が軸索変性症の原因と関連することが示唆されていました。しかし ER-LE 間 MCSs の不全がどのように軸索変性に繋がるのか、詳細な機構は不明でした。

### <研究の内容>

われわれは軸索変性症の発症機構の解明を目指してプロテオミクス解析により Protrudin 複合体を解析し、新たに PDZD8 を同定しました。超解像顕微鏡によって PDZD8 の詳細な細胞内局在を調べたところ、ER-LyLE 間 MCSs に PDZD8 が検出されました(図 1)。そして Protrudin も PDZD8 も、ER と LyLE の繋留を促進する作用があることが示されました。

Liposome-FRET アッセイによって、PDZD8 がリン脂質やセラミドやコレステロールなど複数の脂質を抽出する活性を持つこと、そして SMP ドメインを含む領域がその責任領域であることを見出しました(図 2)。

エンドソーム成熟は、ER と LyLE 間の MCSs で、エンドソームの分裂と融合により進行することが示唆されていました。また遺伝性痙性対麻痺の原因遺伝子の変異により ER と LyLE 間の MCSs に不全が起こり、その結果 LyLE の異常な肥大化が起こることが報告されていました。そこで Protrudin-PDZD8 複合体とエンドソーム成熟との関係を調べました。神経細胞で Protrudin または PDZD8 のノックダウンを行ったところ、LyLE の肥大化が認められ、また SMP ドメインを欠損した PDZD8 を発現させても同様の表現型が認められました。よって PDZD8 による脂質輸送が、エンドソーム成熟に必要なことが示唆されました(図 3)。

また神経の極性や軸索変性症との関連について調べたところ、神経細胞において Protrudin や PDZD8 のノックダウンを行うと、極性異常が認められ、軸索変性の亢進が認められました。よって Protrudin-PDZD8 複合体は、神経細胞の極性形成に必須であり、また神経の健全性維持に働いていることが示されました。

以上の結果より、神経恒常性の維持機構について以下のことが明らかになりました。「Protrudin-PDZD8 複合体は、ER と LyLE の間を繋留し、その MCSs において ER から LyLE に脂質を輸送して正常なエンドソーム成熟を促進し、その結果、神経の恒常性維持に寄与する。」(図 4)

<参考図>

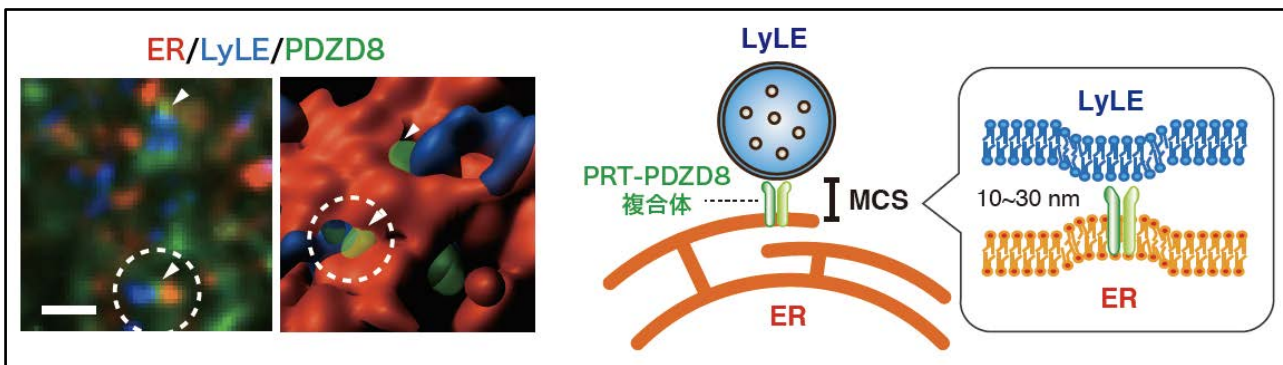


図1 PDZD8はER-LyLE MCSsに局在している

超解像顕微鏡により(左)、神経細胞において Protrudin-PDZD8 複合体が ER と LyLE の間の MCSs に局在することが明らかになりました(右)。

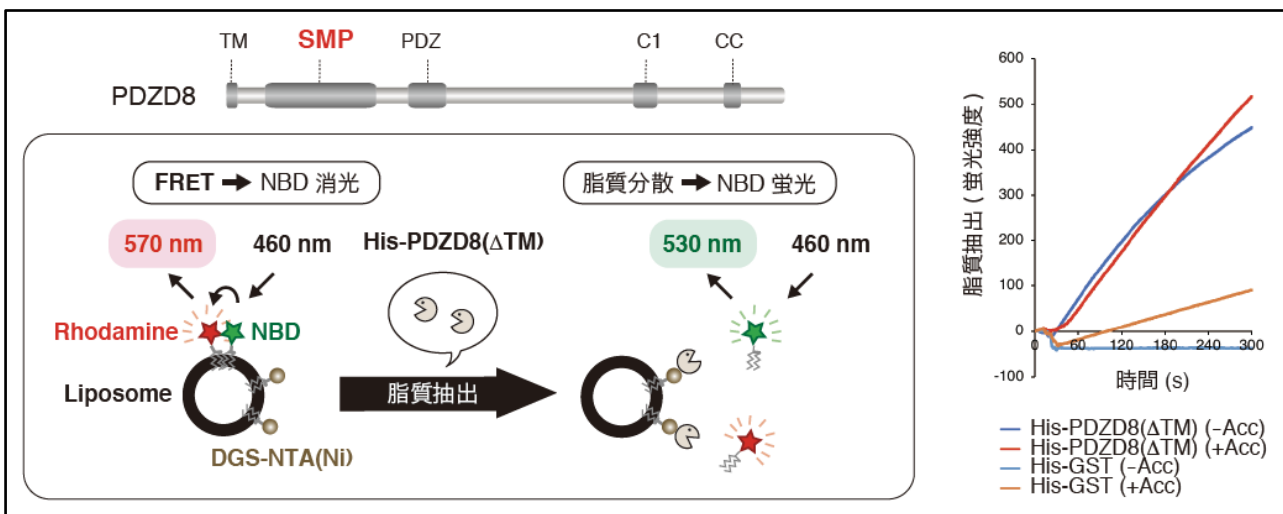


図2 PDZD8は脂質抽出活性を有する

Liposome-FRET アッセイにより(左)、PDZD8が脂質抽出活性を持っていること、SMPドメインがその活性を担っていることが明らかになりました(右)。

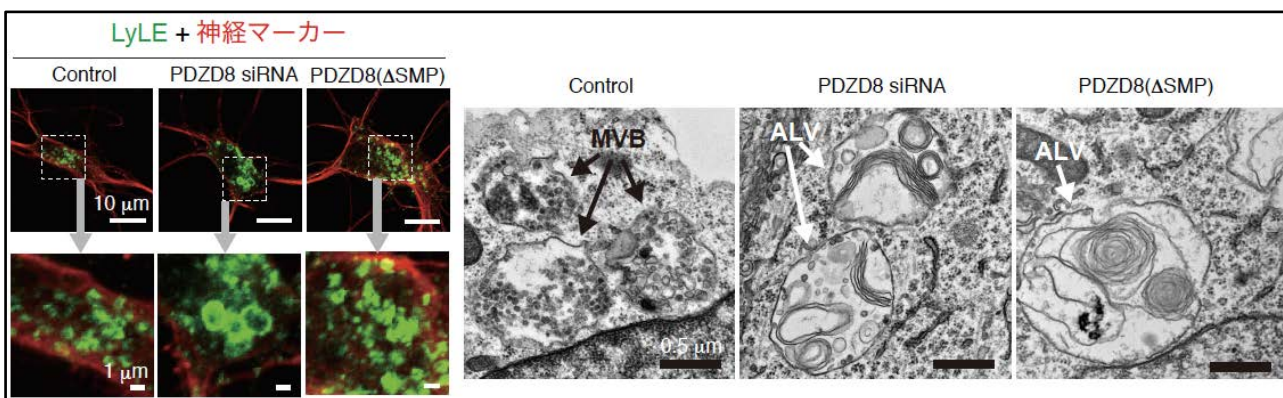


図3 PDZD8は脂質抽出を介してエンドソーム成熟に働く

神経細胞において、PDZD8の発現抑制(PDZD8 siRNA)、またはPDZD8のSMPドメイン欠損変異体発現(PDZD8(ΔSMP))により、共焦点レーザー顕微鏡でLyLEの異常な肥大化が認められ(左)、また電子顕微鏡で多胞体(MVB)の代わりに異常な巨大空胞(ALV)が観察されました(右)。この結果より、エンドソーム成熟にPDZD8による脂質輸送が必要であることが示されました。

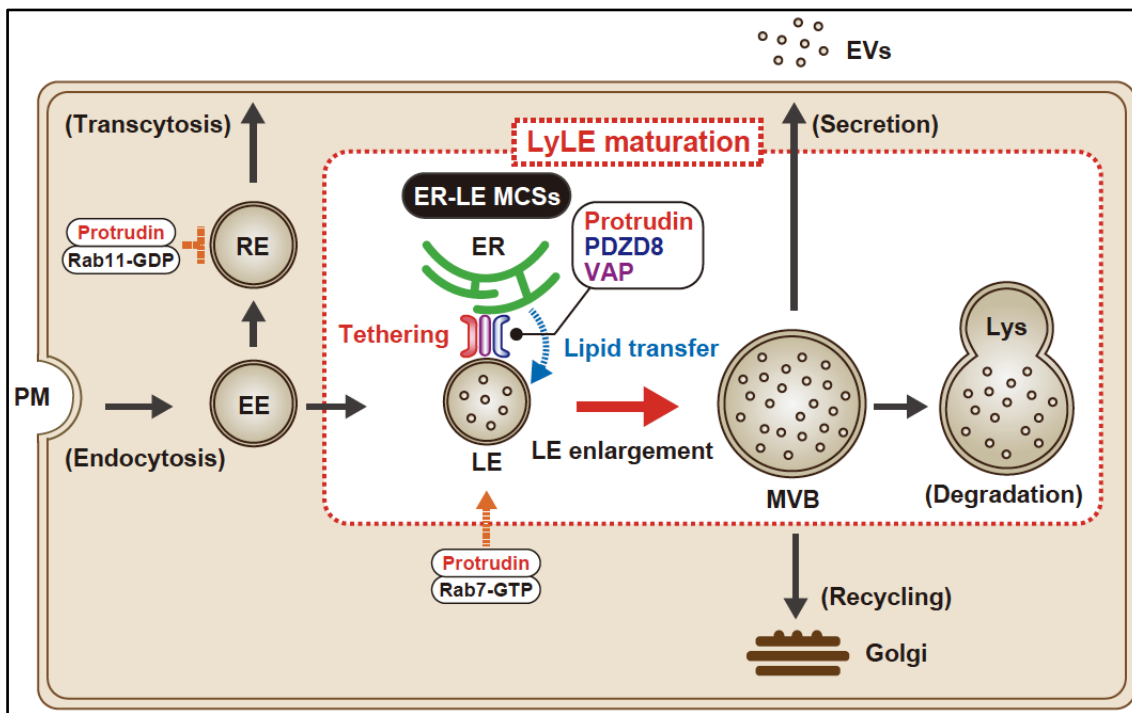


図4 Protrudin-PDZD8 複合体によるエンドソーム成熟機構

Protrudin-PDZD8 複合体は、ER と LyLE の間を繋留し、その MCSs において ER から LyLE に脂質を輸送し、正常なエンドソーム成熟を促します。このエンドソーム成熟は神経細胞の健全性維持に必須で、この機構に不全を来すと神経変性が起こることが示されました。

#### <用語解説>

(※1) Protrudin (プロトルーディン) :

遺伝子名は *zfyve27*。遺伝性痙性対麻痺 (Hereditary spastic paraplegia) の原因遺伝子として知られています。エンドソーム輸送を制御し、神経軸索伸長を促進します。Protrudin は本研究グループが 2006 年に発見したタンパク質です。(Shirane and Nakayama, *Science*, 2006)

(※2) PDZD8 (PDZ domain containing 8) :

PDZD8 は、酵母 ERMES のサブユニット Mmm1 の哺乳類オースログで、ERMES は SMP ドメインを介して MCSs でリン脂質の生合成に寄与しています。また PDZD8 は、神経細胞でカルシウム調節に働いています。さらに PDZD8 は、PTSD のリスクファクターとしても知られています。

(※3) エンドソーム成熟 :

エンドソームは、初期エンドソームから後期エンドソーム、MVB(多胞体)を経て、リソソームと融合しますが、この間に ILV (腔内膜小胞) を含む MVB へ成熟していきます。

(※4) 極性輸送 :

神経細胞は、軸索と細胞体樹状突起という 2 つの性質の異なる領域に分かれている極性細胞です。軸索中で、細胞体から突起先端方向にエンドソームが輸送されることを極性輸送といいます。

(※5) 神経変性疾患 :

神経細胞が徐々に障害を受けて脱落していく疾患の総称です。代表的な病気として、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) などが知られていて、未だに明らかな原因が分かっていません。軸索変性症の遺伝性痙性対麻痺もそのひとつです。

(※6) 遺伝性痙性対麻痺 (Hereditary spastic paraplegia; HSP) :

皮質脊髄路の運動神経が損傷する軸索変性症です。HSP 関連タンパク質として Spastin、Reep1、Atlastin1 など複数が同定されていて、Protrudin もそのひとつです。それらは共通してヘアピンドメインを有し、ER 膜の構造制御に働いていることが知られていました。さらに近年それら HSP 関連タンパク質が、ER-LyLE 間 MCSs で働いていることが示唆されていました。

(※7) MCSs (Membrane contact sites、膜接触部位) :

MCSs は、ER と他のオルガネラが膜融合することなく近接している細胞内マイクロドメインで、各々のオルガネラのアイデンティティを保ちつつ物質交換する場で、細胞内シナプスとも呼ばれています。MCSs の主な機能として、脂質輸送、カルシウム調節、オルガネラ動態制御が知られています。

(※8) 心的外傷後ストレス障害 (Post traumatic stress disorder; PTSD) :

強烈なショック体験や強い精神的ストレスがこころのダメージとなって、時間が経ってからもその経験に対して強い恐怖を感じる精神疾患です。災害、事故、暴力や犯罪被害などが原因になるといわれています。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

科学研究費補助金・基盤研究B

研究課題名 : 「オルガネラコミュニケーションの破綻による神経変性疾患の発症機構」

研究代表者 : 白根 道子 (名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授)

研究期間 : 令和2年4月~令和5年3月

科学研究費補助金・新学術領域研究・細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読

研究課題名 : 「膜構造制御によるオルガネラ連携ゾーン形成と神経軸索変性症との関連」

研究代表者 : 白根 道子 (名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授)

研究期間 : 令和2年4月~令和4年3月

## <論文情報>

タイトル : Protrudin and PDZD8 contribute to neuronal integrity by promoting lipid extraction required for endosome maturation (Protrudin と PDZD8 は脂質抽出を介したエンドソーム成熟により神経細胞の健全性維持に働く)

著者名 : Michiko Shirane, Mariko Wada, Keiko Morita, Nahoki Hayashi, Reina Kunimatsu, Yuki Matsumoto, Fumiko Matsuzaki, Hirokazu Nakatsumi, Keisuke Ohta, Yasushi Tamura & Keiichi I. Nakayama

掲載誌 : Nature Communications, 2020

DOI : 10.1038/s41467-020-18413-9

## <お問い合わせ先>

【研究に関すること】

白根 道子 (しらね みちこ)

名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授

E-mail : shiram@phar.nagoya-cu.ac.jp

中山 敬一 (なかやま けいいち)

九州大学生体防御医学研究所 主幹教授

E-mail : nakayak1@bioreg.kyushu-u.ac.jp

【報道に関すること】

名古屋市立大学企画広報課

E-mail : ncu\_public@sec.nagoya-cu.ac.jp

九州大学広報室

E-mail : koho@jimu.kyushu-u.ac.jp